

Kuckuckskinder beim Sperlingskauz *Glaucidium passerinum*?

Eine genetische Analyse mit Hilfe des DNA-Fingerprinting

Von Anke Rothgänger, Thomas Lubjuhn & Jochen Wiesner

Vortrag im Rahmen der 21. Jahrestagung der AG zum Schutz bedrohter Eulen, Öhringen, Oktober 2005.

Einleitung

Bei vielen monogamen Vogelarten verfolgen die Weibchen alternative Reproduktionsstrategien. Sie kopulieren außer mit ihrem Sozialpartner auch mit nicht im Revier ansässigen Männchen. Dies führt zu Bruten mit mehreren genetischen Vätern, d.h. manche Jungtiere sind nicht mit ihrem sozialen Vater verwandt.

Für männliche Sperlingskäuze, *Glaucidium passerinum*, sind die Reproduktionskosten sehr hoch. Sie verteidigen u. a. die Bruthöhle, versorgen die Weibchen und später auch die Nestlinge mit Nahrung und führen den Nachwuchs nach dem Ausfliegen noch eine geraume Zeit durch das Revier. Die Männchen sollten daher versuchen, Fremdkopulationen ihrer Weibchen zu verhindern, um Investitionen in nicht genetisch verwandte Jungtiere zu vermeiden.

Um zu klären, ob es bei Sperlingskäuzen dennoch zu Kopulationen außerhalb des Paarbundes kommt, wurde in den Jahren 2003 und 2004 in Thüringen von allen Tieren aus 16 Sperlingskauzbruten (32 Altvögel und 89 Nestlinge) Blut aus der Flügelvene entnommen und mit Hilfe des Multilocus DNA-Fingerprinting analysiert. Bei dieser Art der Elternschaftsanalyse werden variable Regionen der DNA in Form von individualspezifischen Bandenmustern dargestellt und miteinander verglichen. Die daraus resultierenden Ergebnisse ermöglichen verlässliche Aussagen zum Auftreten von Fremdvaterschaften.

Material und Methoden

Die Untersuchung der Sperlingskäuze erfolgte in den Jahren 2003 und 2004 in Thüringen, wobei sich die Probennahme auf die Saale-Sandsteinplatte und den Thüringer Wald konzentrierte. Die erforderlichen Genehmigungen zum Fang und zur Blutentnahme erteilte das Thüringer Ministerium für Landwirtschaft, Naturschutz und Umwelt.

Der Fang der Altvögel ($n=32$) erfolgte nach der Fütterung der Nestlinge, die zu diesem Zeitpunkt ungefähr 21

Tage alt waren. Nachdem der jeweilige Altvogel in die Bruthöhle eingeflogen war, wurde ein kleinmaschiger Käschter am Höhleneingang angebracht. Mit diesem Aufbau konnte der Altvogel beim Verlassen der Bruthöhle gefangen werden. Die adulten Sperlingskäuze wurden bis zur Probennahme in einer dunklen Box aufbewahrt. Anschließend konnten die Nestlinge aus der Bruthöhle ($n=89$) entnommen werden. Direkt im Anschluss erfolgte die Blutentnahme. Dazu wurde die Flügelvene (Vena ulnaris) mit Hilfe einer sterilen Einwegkanüle (0,45 x 25 mm) punktiert, der austretende Blutstropfen mit einer Hämatokritkapillare (50 µl) aufgefangen und in 1 ml APS-Puffer (ARCTANDER 1988) überführt. Die Lagerung der Proben erfolgte in Trockeneis bis zum späteren Einfrieren bei -20°C. Falls notwendig, wurde ein steriler Gelaspon-Strip zum Stillen von Nachblutungen verwendet. Nach der Blutentnahme wurden die Nestlinge wieder in die Bruthöhle gesetzt und die Altvögel frei gelassen.

Die Aufarbeitung der Proben erfolgte im Jahre 2004 mit Hilfe des Multilocus DNA-Fingerprinting. Dieses Verfahren ist weit verbreitet bis hin zur Anwendung in der Gerichtsmedizin. Nach der Isolation der DNA (Details in LUBJUHN & SAUER 1999) erfolgte eine DNA-Restriktion mit Hilfe des Enzyms Hae III. Die dabei entstandenen, unterschiedlich langen DNA-Fragmente wurden anschließend im Agarose-Gel aufgetrennt und mit der radioaktiv markierten Oligonukleotidsonde (CA)₈ hybridisiert. Durch das Auflegen eines Röntgenfilms werden so individualspezifische Bandenmuster sichtbar gemacht (siehe Abb. 1).

Die Auswertung der Bandenmuster erfolgte durch Vergleich der Nestlingsfragmente mit den Fragmenten der sozialen Eltern. Möglicherweise außerhalb des Paarbundes gezeugte Nachkommen wurden anhand von Fragmenten identifiziert, die keinem der sozialen Eltern zuge-

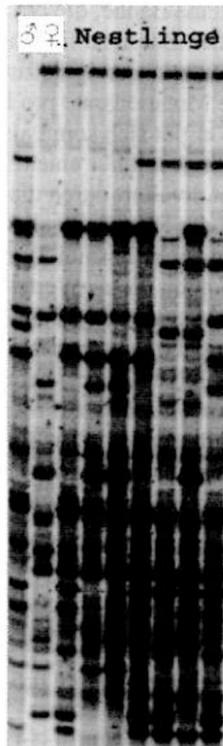


Abb. 1: Bandenmuster einer Sperlingskauzfamilie. Bei der Auswertung werden die Bandenmuster der Nestlinge mit denen der beiden sozialen Eltern verglichen.

ordnet werden konnten. Die Bestimmung des Grades der Übereinstimmung zwischen dem Bandenmuster eines Nestlings und den Bandenmustern der beiden sozialen Eltern erfolgte mit Hilfe des Band-Sharing-Koeffizienten (siehe Formel 1).

Formel 1

$$D = \frac{2 * N_{AB}}{N_A + N_B}$$

D - Band-Sharing-Koeffizient
 N_{AB} - Anzahl übereinstimmender Fragmente zwischen Individuum A und Individuum B
 N_A - Gesamtzahl aller Fragmente von Individuum A
 N_B - Gesamtzahl aller Fragmente von Individuum B

Im Ergebnissteil sind neben den Mittelwerten die entsprechenden

Standardabweichungen sowie teilweise die 95 % Konfidenzintervalle angegeben.

Um die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von Mutationen abzuschätzen, wurde davon ausgegangen, dass eine einzelne Bande, die bei keinem der sozialen Eltern zu finden ist, stets auf ein Mutationsereignis zurückgeht. Die Mutationsrate pro Fragment (P) ergibt sich somit als Anzahl der Nestlinge mit nur einem neuen Fragment dividiert durch die Gesamtzahl der Fragmente aller Nestlinge (siehe Formel 2). Durch Multiplikation dieses Wertes mit der mittleren Anzahl der pro Nestling dargestellten Fragmente wird die Wahrscheinlichkeit (p_1) berechnet, mit der ein einzelnes auf Mutationen zurückzuführendes neues Fragment im Bandenmuster eines Nestlings auftritt (siehe Formel 3).

Formel 2

$$P = \frac{m}{n}$$

P - Mutationsrate pro Fragment

m - Anzahl Nestlinge mit einem neuen Fragment

n - Gesamtzahl Fragmente aller Nestlinge

Formel 3

$$p_1 = P * z$$

p_1 - Mutationswahrscheinlichkeit mit der ein einzelnes Fragment entsteht

P - Mutationsrate pro Fragment

z - mittlere Anzahl Fragmente pro Nestling

Unter der Voraussetzung, dass einzelne Mutationsereignisse unabhängig voneinander auftreten, kann anschließend die Wahrscheinlichkeit des gleichzeitigen Auftretens mehrerer neuer Fragmente (p_2) im Bandenmuster eines Nestlings nach Formel 4 berechnet werden, wobei x der Anzahl neuer Fragmente entspricht.

Formel 4

$$p_2 = p_1^x$$

p_2 - Wahrscheinlichkeit des gleichzeitigen Auftretens mehrerer neuer Fragmente

p_1 - Mutationswahrscheinlichkeit mit der ein einzelnes Fragment entsteht

x - Anzahl neuer Fragmente

Ergebnisse

Durchschnittlich wiesen die Bandenmuster der 121 untersuchten Sperlingskäuze $14 \pm 2,6$ Fragmente auf. Bei 87 von 89 Nestlingen konnte

sozialen Eltern nachgewiesen werden konnten.

In Abbildung 3 sind die Band-Sharing-Koeffizienten der Altvögel untereinander, sowie die Band-

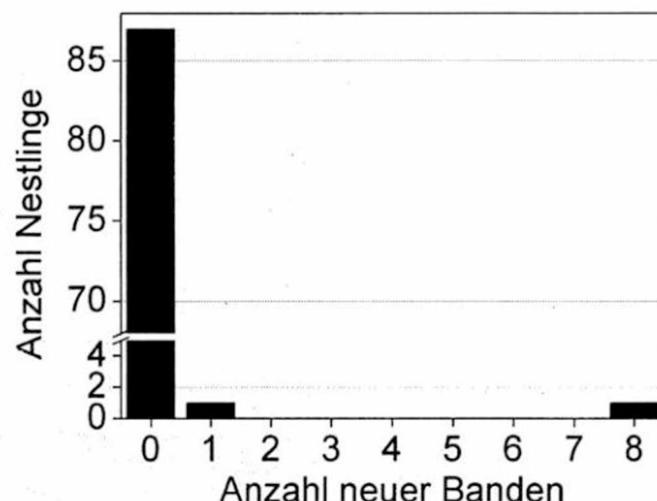


Abb. 2: Verteilung der Nestlinge hinsichtlich des Auftretens bzw. Nicht-Auftretens neuer Fragmente, d.h. von Banden, die bei keinem der beiden sozialen Eltern vorhanden waren.

für alle Fragmente eine Entsprechung im Bandenmuster der sozialen Eltern gefunden werden (siehe Abb. 2). Bei

Sharing-Koeffizienten zwischen den Nestlingen und ihrer sozialen Mutter

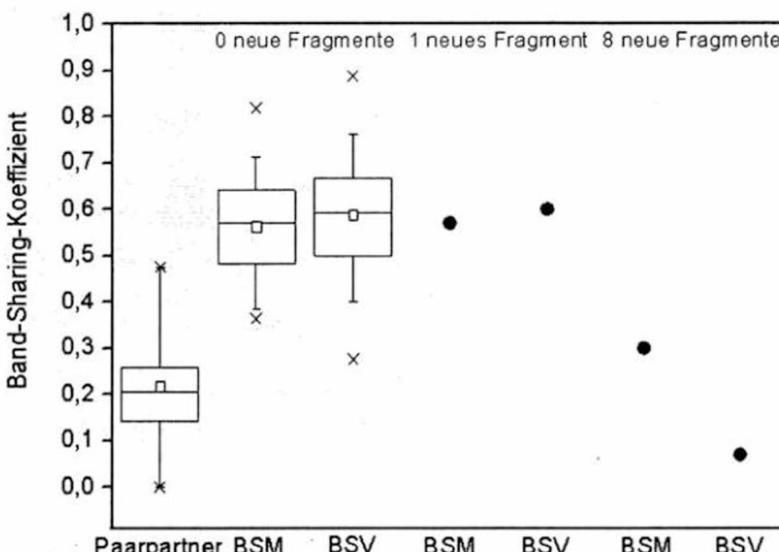


Abb. 3: Band-Sharing-Koeffizienten der Adulttiere untereinander sowie zwischen Nestlingen und ihrer sozialen Mutter (BSM) bzw. Nestlingen und ihrem sozialen Vater (BSV) in Abhängigkeit von der Anzahl neuer Fragmente im Bandenmuster der betreffenden Nestlinge. □ = arithmetisches Mittel; — = Median; x = Maximum bzw. Minimum; - = 5 % bzw. 95 %-Quantil; Boxen durch 25 % und 75 %-Quantil begrenzt (50 % aller Werte); • = Einzelwert.

jeweils einem Nestling befanden sich jedoch ein bzw. acht neue Fragmente im Bandenmuster, d.h. ein bzw. acht Banden, die bei keinem der beiden

bzw. ihrem sozialen Vater dargestellt. Die Paarpartner zeigten einen mittleren Band-Sharing-Koeffizienten von $0,22 \pm 0,11$. Der

mittlere Band-Sharing-Koeffizient der Nestlinge ohne neue Fragmente lag mit der sozialen Mutter bei $0,56 \pm 0,10$ (Konfidenzintervall 95 %: 0,54-0,58; n=87) und mit dem sozialen Vater bei $0,59 \pm 0,11$ (Konfidenzintervall 95 %: 0,57-0,61; n=87).

Die Band-Sharing-Koeffizienten des Nestlings mit einem neuen Fragment (mit sozialer Mutter = 0,57, mit sozialem Vater = 0,60) lagen im Bereich der betreffenden Band-Sharing-Koeffizienten von Nestlingen ohne neue Fragmente in ihren Bandenmustern.

Elterntieren erhalten, sollte jedes Fragment eines Nestlings einem Fragment im Bandenmuster der genetischen Eltern zugeordnet werden können. Diese Bedingung war, wie in Abbildung 2 dargestellt, für 87 Nestlinge und ihre sozialen Eltern erfüllt; das sind 97,8 % der untersuchten Jungvögel. An der Abstammung der betreffenden Jungvögel von den sozialen Eltern besteht aufgrund der Informativität der dargestellten Bandenmuster somit kein Zweifel.

Bei außerhalb des Paarbundes ge-

Dieser kann Werte zwischen null, bei keiner Übereinstimmung der Bandenmuster, und eins, bei vollständiger Übereinstimmung, annehmen. Da die Nestlinge 50 % ihres Erbguts von jedem der beiden genetischen Eltern erhalten, sollte der Band-Sharing-Koeffizient ebenfalls bei etwa 0,50 liegen. Einzelne Fragmente können jedoch bei beiden Eltern vorhanden sein und gehen dann zweimal in die betreffenden Berechnungen ein (vgl. Formel 1 in Material und Methoden), was zur Folge hat, dass der mittlere Band-Sharing-Koeffizient gewöhnlich über dem Wert von 0,50 liegt.



Abb. 4: Sperlingskauzbrut mit neun Nachkommen. Alle neun Jungtiere stammen von einem Elternpaar ab.

Für den Nestling mit acht neuen Fragmenten ist das mutationsbedingte Auftreten dieser Fragmente mit $2,54 * 10^{-16}$ extrem unwahrscheinlich (siehe auch Material und Methoden). Der Band-Sharing-Koeffizient mit der sozialen Mutter lag bei 0,30, der Band-Sharing-Koeffizient mit dem sozialen Vater hingegen bei nur 0,07.

Diskussion

Da Nachkommen ihre gesamte genetische Information von den beiden

zeugten Nachkommen treten Fragmente auf, die keinem der beiden sozialen Eltern zugeordnet werden können. Von den 89 untersuchten Nestlingen wiesen nur zwei Tiere derartige Fragmente auf. Da neue Fragmente jedoch auch durch Mutationseignisse auftreten können, muss für gesicherte Aussagen zur Abstammung ein weiteres Kriterium, der so genannte Band-Sharing-Koeffizient, herangezogen werden.

Der Band-Sharing-Koeffizienten und somit die Anzahl der übereinstimmenden Fragmente ist zwischen den Paarpartnern der untersuchten Sperlingskäuze erwartungsgemäß niedrig (siehe Abb. 3). Daraus kann geschlossen werden, dass diese in keinem näheren verwandtschaftlichen Verhältnis zueinander stehen.

Da die Band-Sharing-Koeffizienten mit der sozialen Mutter und dem sozialen Vater bei dem Nestling mit

einem neuen Fragment im Konfidenzintervall der Band-Sharing-Koeffizienten von Nestlingen mit null neuen Fragmenten liegen, kann davon ausgegangen werden, dass auch dieser Nestling von seinen sozialen Eltern abstammt und das betreffende neue Fragment durch eine Mutation zustande gekommen ist. Für den Nestling mit acht neuen Fragmenten kann dies jedoch nicht gelten, da eine derartige Anhäufung von Mutationen bei einem einzelnen Nestling extrem unwahrscheinlich ist ($p = 2,54 * 10^{-16}$). Während der Band-Sharing-Koeffizient des betreffenden Nestlings mit seiner sozialen Mutter (= 0,30) in einem Bereich liegt, der auch bei Nestlingen auftreten kann, an deren Abstammung kein Zweifel besteht (vgl. Abb. 3), liegt der Band-Sharing-Koeffizient mit dem sozialen Vater mit 0,07 klar außerhalb dieses Bereiches. Bei dem sozialen Vater handelt es sich somit nicht um den genetischen Vater, d.h. der Nestling wurde durch eine Kopulation des ansässigen Weibchens mit einem fremden Männchen gezeugt. Informationen zum tatsächlichen genetischen Vater des „Fremdnestlings“ liegen nicht vor. Zwei Männchen der näheren Umgebung, die im Abstand von 0,9 km bzw. 3,4 km brüteten, konnten durch weitere Analysen als genetische Väter ausgeschlossen werden. Es muss sich daher um ein weiteres territoriales Männchen aus der Umgebung handeln, das nicht beprobt wurde, oder aber um ein vagabundierendes Männchen ohne Revier. Ebenfalls nicht völlig ausgeschlossen werden kann, dass der ursprüngliche Revierinhaber während der Zeit der Eiablage verstarb und durch ein neues Männchen ersetzt wurde. Allerdings gibt es in der Literatur keine Hinweise darauf, dass nach Verlust eines Männchens zu diesem fortgeschrittenen Zeitpunkt Weibchen und Gelege von einem anderen Männchen übernommen werden.

Da bei den 89 untersuchten Sperlingskauz-Nestlingen nur ein außerhalb des Paarbundes gezeugtes Jungtier identifiziert werden konnte, kann angenommen werden, dass solche Nestlinge bei Sperlingskäuzen relativ selten sind. Dies deckt sich mit Untersuchungen an anderen Eulenarten. So wiesen MÜLLER et al. (2001) bei 53 untersuchten Steinkauz-

Nestlingen (16 Brut) keinen einzigen und ROULIN et al. (2004) bei 211 Schleiereulen-Nestlingen (54 Brut) nur einen einzelnen fremdgezeugten Jungvogel nach.

Zusammenfassung

In den Jahren 2003 und 2004 wurden 121 Sperlingskäuze (32 Altvögel und 89 Nestlinge) untersucht, um den Anteil außerhalb des Paarbundes gezeugter Nachkommen zu ermitteln. Dazu wurde den Tieren Blut entnommen. Die detaillierte Analyse der Blutproben mit Hilfe des Multilocus DNA-Fingerprinting zeigte, dass 88 Nestlinge von beiden sozialen Eltern abstammten. Ein Jungvogel wurde jedoch nicht durch das ortsansässige Männchen gezeugt.

Summary

In 2003 and 2004 we took blood samples from 32 adult Pygmy Owls (*Glaucidium passerinum*) and their offspring (n=89) to test for the occurrence of extra pair paternity by multi-locus DNA fingerprinting.

Detailed analyses of the resulting banding patterns revealed that only one in 89 nestlings was sired by a male other than the social mate of the respective female.

Danksagung

Wir danken M. Göring, F. Putzmann und C. Unger für die Suche und Betreuung weiterer Sperlingskauzbruten. Mit ihrer Hilfe konnte die Zahl der untersuchten Brut deutlich gesteigert werden. Des Weiteren danken wir C. Wallnisch und T. Schmoll für ihre Hilfe bei der Laborarbeit und bei der Auswertung der Bandenmuster, sowie J.T. Epplen und seinen Mitarbeitern für die radioaktive Hybridisierung der Agarose-Gele. Dank schulden wir auch den Thüringer Forstämtern Hummelshain und Stadtroda für die Erteilung aller notwendigen Genehmigungen und für die Unterstützung bei allen forstlich relevanten Fragen. Für die Erteilung der artenschutzrechtlichen Ausnahmegenehmigung danken wir dem Thüringer Ministerium für Landwirtschaft, Natur- und Umwelt und für die Finanzierung der vorliegenden Studie der Studienstiftung des Deutschen Volkes.

Literatur

ARCTANDER, P. (1988): Comparative studies of avian DNA by restriction fragment length polymorphism analysis: Convenient procedures based on blood samples from live birds. *J. Ornithol.* 129: 205-216

MÜLLER, W., J.T. EPPLEN & T. LUBJUHN (2001): Genetic paternity analyses in Little Owls (*Athene noctua*): does the high rate of paternal care select against extra-pair young? *J. Ornithol.* 142: 195-203

ROULIN, A., W. MÜLLER, L. SASVÁRI, C. DIJKSTRA, A.-L. DUCREST, C. RIOLS, M. WINK & T. LUBJUHN (2004): Extra-pair paternity, testes size and testosterone level in relation to colour polymorphism in the barn owl *Tyto alba*. *J. Avian Biol.* 35: 492-500

LUBJUHN, T. & K.P. SAUER (1999): DNA fingerprinting and profiling in behavioural ecology. In: EPPLEN, J.T. & T. LUBJUHN (eds): *DNA profiling and DNA fingerprinting*, Basel

Anschriften

Anke Rothgänger
Friedrich-Schiller-Universität
Institut für Ökologie
Dornburger Str. 159
D-07743 Jena
E-Mail: anke.rothgaenger@uni-jena.de

Dr. Thomas Lubjuhn
Institut für Evolutionsbiologie und Ökologie
Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität
An der Immenburg 1
D-53121 Bonn
E-Mail: t.lubjuhn@uni-bonn.de

Dr. Jochen Wiesner
Thüringer Landesanstalt für Umwelt und Ökologie
Fachbereich Naturschutz
Göschwitzer Straße 41
D-07745 Jena
E-Mail: j.wiesner@TLUGJena.Thueringen.de

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Eulen-Rundblick](#)

Jahr/Year: 2006

Band/Volume: [55-56](#)

Autor(en)/Author(s): Rothgänger Anke, Lubjuhn Thomas, Wiesner Jochen

Artikel/Article: [Kuckuckskinder beim Sperlingskauz Glaucidiumpasserinum? Eine genetische Analyse mit Hilfe des DNA-Fingerprinting 28-31](#)